Betriebsanleitung und Benutzerordnung für die Räume des Lehrstuhls Mikrobiologie der TUM

Fassung vom 25.10.2004

Inhalt:

1.1. Sicherheitsbeauftragte
1.2. Sicherheitsstufen und Sicherheitslabors
1.3. Rechtliche Grundlagen
2. Genehmigung zum Arbeiten im Laborbereich
3. Betrieb der Laborbereiche
- 3.1. Kennzeichnungsregelung:
- 3.2. Zugangsregelung
- 3.3. Regeln für sicheres Arbeiten in mikrobiologischen Labors
- 3.4. Aufzeichnungspflicht
  - 3.4.1. Gefährdungsbeurteilung
  - 3.4.2. Aufzeichnung laufender Arbeiten
- 3.5. Hygiene
- 3.6. Betriebsanweisung gem. §20 GefStoffV und TRGS 451
  - 3.6.1. Lagerung und Transport von Chemikalien
  - 3.6.2. Entsorgung
    - 3.6.2.1. Biologischer Abfall
    - 3.6.2.2. Feststoffabfall / Chemikalien
- 3.7. Versorgung
- 3.8. Weitergabe von Bakterienstämmen und von DNA
- 3.9. Gerätebenutzung
  - 3.9.1. Inkubationsschüttler und Bruträume:
  - 3.9.2. Wasserbäder:
  - 3.9.3. Tischzentrifugen:
  - 3.9.4. Kühlzentrifugen (Sorvall etc.):
  - 3.9.5. Tiefkühlschränke (-70°) und Tiefkühltruhen (-80°, -50°):
  - 3.9.6. UV-Licht:
  - 3.9.7. Glasgeräte:
  - 3.9.8. Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop, automatischer DNS-Sequenzierer, Epifluoreszenzmikroskope, Photonenkamera
  - 3.9.9. Reinstwasser-Anlage MilliQ
- 3.10. Verlassen des Labors
- 3.11. Reinigung
- 3.12. Haftung bei grobfahrlässiger Beschädigung von Geräten
- 3.13. Arbeitszeiten

4. Stör- und Notfälle
- 4.1. Austreten biologischen Materials mit Gefährdungspotential
- 4.2. Hautkontakt mit biologischem Material mit Gefährdungspotential
- 4.3. Verletzung, Unfall
  - 4.3.1. Liste der Ersthelfer:
  - 4.3.2. Ordnungsgemäßer Notruf !!
  - 4.3.4. Versicherung:
- 4.4. Brand

Anhänge:

Anhang I Hygieneplan
- 1. Allgemeines

2. Desinfektion, 3. Sterilisation, 4. Überprüfung der Autoklaven
Anhang II Arbeiten in der Sicherheitswerkbank Klasse 2 (LamFlow)
Anhang III Autoklavieren von Medien und Entsorgung biologischen Materials
1. Allgemein
2. Beladen
3. Den Autoklaven in Gang setzen
4. Den Autoklaven öffnen
5. Reinigung
6. Zusätzlich beim Autoklavieren von Medien für die Anzucht von Anaerobiern zu beachten
Anhang IV Reinigung von Plastikmaterial (z.B. Zentrifugenbechern)
1. Materialien
2. Haltbarkeitstabelle
3. Unsere wichtigsten Gefäße aus Plastikmaterialien
4. Plastikmaterialien im Autoklaven
5. Säuberung von Plastikmaterialien
Anhang V Entsorgung von Ethidiumbromid-Abfällen
Anhang VI Entsorgung von Feststoffen
Anhang VII Auszug aus der BioStoffV (§§1 - 8, 10 – 13, 15, 16)
Anhang VIII Arbeiten mit Stickstoff
Anhang IX Sicherheitsorientierung im Labor
Anhang X Digestorien
Anhang XI Checkliste: Verpackung gefährlicher Abfälle zur Entsorgung
Anhang XII Mikroskope, Mikroskopie-Labor
Anhang XIII Umgang mit Pikrinsäure- und Quecksilber-haltigen Chemikalien

1.1. Sicherheitsbeauftragte

Beauftragter für: (Stellvertreter in Klammern)

chemische Sicherheit:	Dr. W. Ludwig	Tel. -5451
biolog. Sicherheit:	Dr. W. Schwarz	Tel. -5445
Isotopenlabor:	Dr. W. Ludwig	Tel. -5451
Gefahrgutbeauftragter	Dr. W. Schwarz	Tel. -5445

1.2. Sicherheitsstufen und Sicherheitslabors

a) Alle Labors des Lehrstuhls sind "chemische Laboratorien";
b) Alle Labors des Lehrstuhls sind mikrobiologische und gentechnische Labors mindestens der Risikogruppe L1, bzw. S1 (BioStoffV, BSeuchG, GenTG); folgende Räume sind jedoch in Risikogruppe L2 eingestuft:

- Raum K05 (Kühlgeräteraum, Lagerung)
- Raum 002 (AG Ludwig)
- Raum 003, 004 (Brutraum)
- Raum 005 (AG Ludwig)
- Raum 007 (Kühlraum)
- Raum 012 (Autoklavenraum)
- Raum 015 (AG Ludwig)
- Raum 020 (Kühlraum)
- Raum 101 (AG Ludwig)

Für Arbeiten, die nach der BSeuchG in **Risikogruppe L2** eingestuft werden, stehen die folgenden Bio2-Labors zur Verfügung: **002, 005, 015 und 101.**

Für Arbeiten, die nach dem GenTG in **Risikogruppe S2** eingestuft werden, steht ausschließlich das Bio2-Labor **002** zur Verfügung.

1.3. Rechtliche Grundlagen

Unterschiedliche Labors sind für Arbeiten mit chemischen und mit natürlichen und rekombinanten biologischen Agenzien vorgesehen, die unter die Risikogruppen 1 und 2 fallen. Wenn notwendig, legt der zuständige Laborleiter weitergehende labor- oder arbeitsplatzspezifische Maßnahmen fest. Es gelten für alle Labors u.a. die Regelungen:

- die Verordnung über Sicherheits und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen (BioStoffV) vom 27.01.1999, v.a. die **Gefährdungsbeurteilung gemäß § 5 Arbeitsschutzgesetz und § 7 Biostoffverordnung.**
- das Bundesimmissionsschutzgesetz (BImSchG) vom 31.7.86
- die Gefahrstoffverordnung vom 26.08.86 mit ihren Änderungen
- die technische Regel für den "Umgang mit Gefahrstoffen im Hochschulbereich" (TRGS 451) vom 25.07.91
- die "Richtlinien für chemische Laboratorien" der BG Chemie
- der "Richtlinien für Laboratorien" der GUV , sowe die Richtlinien der Broschüre "Sicheres Arbeiten im chemischen Labor" der GUV, BG Chemie und der GDCh.
- des Gesetzes zur Regelung von Fragen der Gentechik (GenTG) mit Verordnung über die Sicherheitsstufen und Sicherheitsmaßnahmen bei gentechnischen Arbeiten in gentechnischen Anlagen (Gentechnik-SicherheitsVO - GenTSV), insb. Anhang III
- der Unfallverhütungsvorschrift der BG Chemie Abschnitt 31 (UVV Biotechnologie VBG 102) vom 01.01.1988
- des Infektionsschutzgesetzes (InfSG) und der BioStoffVerordnung
- - der DIN 58 956 Medizisch-mikrobiologische Laboratorien vom 01.06.90.

sowie alle anderen in der Sammlung "Arbeitssicherheit-Umweltschutz" und der Biostoffverordnung aufgeführten Gesetze, Verordnungen und TU-internen Regelungen, sowie die gültigen „Technischen Regeln“, insb. für biologische Arbeitsstoffe, TRBA, sowie der Abwassersatzung der Gemeinde Freising.

Diese Regelungen können auf der Homepage des Sicherheitswesens der TUM eingesehen werden (http://www.siss.tu-muenchen.de/). Eine kommentierte Ausgabe aller Regelungen des Gentechnikrechts (inkl. BioStoffV) steht bei Dr. Schwarz, Raum 025.

2. Genehmigung zum Arbeiten im Laborbereich

In allen Labors dürfen nur Personen tätig werden, die vom Laborleiter dazu autorisiert und bezüglich allgemeiner Laborsicherheit, biologischer Sicherheit und gegebenenfalls Strahlenschutz belehrt sind.

Für alle geplanten experimentellen Arbeiten mit biologischem Material ist es notwendig, zusammen mit dem Projektleiter **vorher** eine Risikobewertung (Bestimmung des Gefährdungspotentials) durchzuführen, aus der sich die erforderliche Sicherheitsstufe der Experimente ergibt (GenTG §§6,7; GenTSV, Anhang III; BioStoffV). Das Ergebnis ist gegebenenfalls schriftlich festzuhalten.

Vor der Aufnahme einer jeden Arbeit ist die Genehmigung des Laborleiters einzuholen, der (evtl. zusammen mit dem Beauftragten für biologische Sicherheit, BBS) abklärt, ob weitere Genehmigungen erforderlich sind. S1-, L1- und L2-Arbeiten bedürfen in der Regel keiner weiteren Anmeldung oder Genehmigung; neue S2-Projekte müssen mindestens 2 Monate vor Beginn der Arbeiten angemeldet werden.

3. Betrieb der Laborbereiche

3.1. Kennzeichnungsregelung:

Alle Labors sind mit dem Schildern je nach Einstufung mit „BIO I“ bzw. „BIO II“ gekennzeichnet (entspricht den L1- bzw. L2-Labors). Außerdem sind neben den Labortüren von L2- und S2-Labors die Metallprägeschilder „Biogefährdung“ angebracht.

3.2. Zugangsregelung

Der Zutritt ist für Personen, die nicht dem Institut angehören, ist grundsätzlich verboten. Ihnen ist der Zutritt nur nach vorheriger Genehmigung durch den Laborleiter und in Begleitung gestattet.

Für **das Reinigungspersonal** ist der Zutritt zu den Labors erst nach erfolgter Sicherheitsbelehrung und arbeitsplatzbezogener Einweisung erlaubt, zu den BioII-Labors auch dann nur in Begleitung einer zu dem Labor gehörigen Person.

Regelmäßigen Zutritt zu den S1-und L2/S2-Labors haben nur Personen, die vom Sicherheitsbeauftragten oder dem Laborleiter zugelassen und in einer Unterweisung bezüglich der Sicherheitsvorkehrungen belehrt sind.

L2- und S2-Labors dürfen **Besucher** nur nach vorheriger mündlicher Erlaubnis des BBS oder Laborleiters, unter fachkundiger Begleitung und nach Aufklärung über bestehendes Gefährdungspotential betreten und/oder darin tätig werden. Alle Besuche müssen in einem Besucherbuch protokolliert werden.

Alle Beschäftigten sind mindestens einmal jährlich mündlich allgemein zu unterweisen. Eine darüber hinausgehende, arbeitsplatzbezogene Unterweisung hat durch den Laborleiter regelmäßig und bei einer Änderung der Arbeiten sofort zu erfolgen. Diesen Anweisungen ist strikt Folge zu leisten. Datum und Umfang der Unterweisungen ist schriftlich festzuhalten.

Reparaturen und Servicearbeiten in L2- und S2-Labors dürfen nur nach vorheriger mündlicher Erlaubnis des Laborleiters durchgeführt werden. Dabei hat er ein mögliches Gefährdungspotential abzuklären, das Personal entsprechend zu unterweisen und evtl. Schutz-Maßnahmen zu ergreifen. Der Aufenthalt von Reparatur- und Servicepersonal wird im Gästebuch protokolliert.

Den Anweisungen der Sicherheitsbeauftragten und des Laborleiters ist Folge zu leisten.

3.3. Regeln für sicheres Arbeiten in mikrobiologischen Labors

- Türen und Fenster der Arbeitsräume müssen während der Arbeiten geschlossen sein. Starken Luftzug vermeiden (Be- und Entlüftung!).
- In den Arbeitsräumen darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden. Nahrungsmittel dürfen dort nicht aufbewahrt werden.
- Laborkittel und soweit notwendig andere Schutzkleidung (Handschuhe, Schutzbrillen etc.) müssen in den Arbeitsräumen getragen werden.
- Mundpipettieren ist untersagt. Mechanische Pipettierhilfen sind zu benutzen (Peleusbälle oder Pipetman etc.).
- Überprüfung der Wirksamkeit von Abzügen und Sicherheitswerkbänken (Klasse I und II).
- Kenntnis der Schutzeinrichtungen: Augenduschen, Notbrausen, Feuerlöscher, Erste-Hilfe-Kästen, Abschaltmöglichkeiten für Strom, Wasser und Gas etc.
- Fluchtwegtüren dürfen von innen nicht versperrt sein, die Fluchtwege müssen in voller Breite offen sein.
- Spritzen und Kanülen sollen nur wenn unbedingt nötig benutzt werden. Die entsprechenden Vorsichts-Maßnahmen für gefahrlose Beseitigung sind zu beachten (z.B. feste Abfall-Gefäße für Kanülen !!).
- Bei allen Manipulationen ist Aerosolbildung zu vermeiden (z.B. Zentrifugation, Suspendieren etc). Pathogene Organismen dürfen nur in geschlossenen Systemen gezogen und geerntet werden (z. B. Tangentialfiltration).
- Laborräume und -tische müssen aufgeräumt und saubergehalten werden. Auf den Arbeitstischen sollen nur die tatsächlich für den momentanen Versuch benötigten Geräte und Materialien stehen. Alle Geräte sind nach jedem Gebrauch sachgerecht zu desinfizieren und zu reinigen.
- Die Identität der benutzten Mikroorganismen ist regelmäßig zu überprüfen, gegebenenfalls (bei humanpathogenen) bei jedem Experiment.
- Bakterien-Abfall (Medien, Agarplatten, Kulturkonzentrate etc.) muss gesammelt und durch Autoklavieren unschädlich gemacht werden. Bei Verschütten von S2-Material den kontaminierten Bereich sofort sperren und desinfizieren. Der Projektleiter oder der BBS ist **sofort** zu benachrichtigen.
- Bei der Laborreinigung darauf achten, dass Staubbildung vermieden wird (staubbindende Verfahren: feuchtes Wischen)
- Nach Beendigung eines Arbeitsganges und vor Verlassen des Laboratoriums müssen die Hände sorgfältig gewaschen werden (vorher evtl. desinfizieren!). Nach Beendigung der Tätigkeiten sind alle Arbeitsflächen zu desinfizieren.
- In der Mikrobiologie unerfahrene Mitarbeiter müssen über die möglichen Gefahren unterrichtet und sorgfältig angeleitet und überwacht werden.
- Ungeziefer muss, wenn nötig, regelmäßig bekämpft werden.
- Gefäße mit biologischen Agenzien mit Gefährdungspotential sind eindeutig zu kennzeichnen und mit entsprechenden Warn-Hinweisen zu versehen.
- Bei Arbeiten mit gentechnischem Material: Arbeitsgeräte müssen vor der Reinigung autoklaviert oder anderweitig desinfiziert werden.

3.4. Aufzeichnungspflicht

3.4.1. Gefährdungsbeurteilung

Vor Beginn aller Arbeiten ist sowohl nach dem GenTG als auch nach der BioStoffV eine Beurteilung der Gefährdungsstufen gemäß den Vorschriften durchzuführen. Die Beurteilung der Einstufung in die Gefährdungsklassen L2, S1 und S2 ist zu protokollieren und zusammen mit den anderen Aufzeichungen aufzubewahren.

3.4.2. Aufzeichnung laufender Arbeiten

Über die Durchführung von Arbeiten mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen ist gewissenhaft Aufzeichnung in der vorgeschriebenen Form zu führen (GenTAufzV). Hierfür stehen beim Laborleiter ein entsprechender Ordner und Vordrucke bereit. Der Laborleiter überwacht die Aufzeichnungen, die nach seiner Anordnung zu führen sind.

Achtung: Die Regeln für das Aufzeichnen von Arbeiten unter den Risikogruppen 1 und 2 unterscheiden sich!

3.5. Hygiene und Selbstschutzmaßnahmen

Die Arbeitskleidung ist getrennt von normaler Kleidung aufzubewahren. Schutzkittel müssen **vor** Verlassen des L2-Labors gewechselt werden. Bei Arbeiten mit Agenzien mit chemischem oder biologischem Gefährdungspotential (L2- und S2-Arbeiten) sind Schutzhandschuhe und evtl. (z.B. bei Spritzgefahr) Schutzbrillen zu tragen. Hautkontakt ist unbedingt zu vermeiden. Nach Abschluss der Arbeiten sind die Hände zu reinigen (-> desinfizieren -> waschen mit den Spendern am Waschbecken). Abtrocknen nur mit Einmal-Papierhandtüchern! Gegebenenfalls nachfetten.

Der Arbeitsplatz ist regelmäßig (d.h. mindestens einmal pro Tag) mit geeigneten Mitteln zu desinfizieren.

Der beiliegende Hygieneplan ist verbindlich und Bestandteil dieser Betriebsanleitung.

3.6. Betriebsanweisung gem. §20 GefStoffV und TRGS 451

Die Betriebsanweisungen liegen in den Labors auf. Es gelten u.a. die folgenden Anweisungen zu Lagerung und Entsorgung von Chemikalien.

3.6.1. Lagerung und Transport von Chemikalien

Chemikalien sind ordnungsgemäß zu lagern. Es bestehen:

- **Kennzeichnungspflicht** (Gefahrensymbole entspr. der Gefahrstoffverordng.)
- **Mengenbegrenzun**g bei der Vorratshaltung brennbarer Flüssigkeiten (tägl. Bedarf oder 1 L oder Sicherheits-Stahlflaschen)
- Giftchemikalien sind ausschließlich im **Giftschrank** zu lagern.
- Gasflaschen sind vorschriftsgemäß zu sichern.
- Der **Transport** aus dem Chemikalienlager muss entsprechend den Sicherheitsgrundsätzen durchgeführt werden (z. B. Sicherheitseimer, Wannen etc.).
- Den Transport von Gefahrstoffen außerhalb der Institutsräume immer mit dem AG-Leiter absprechen.

3.6.2. Entsorgung

3.6.2.1. Biologischer Abfall

Jeder mit biologischem Material kontaminierte Abfall ist vor der Entsorgung physikalisch oder chemisch zu inaktivieren: feste und flüssige Abfälle (Medien etc.) sind zu autoklavieren (siehe besondere Anweisung), Oberflächen sind durch Alkoholbehandlung zu desinfizieren (siehe Hygieneplan).

Die Pipetteneimer für Glaspipetten enthalten zur Sterilisation ein Desinfektionsmittel, das wöchentlich (montags) erneuert werden muss.

Für das S2-Labor gelten verschärfte Verhaltensmaßregeln, die gegebenenfalls in einer arbeitsplatzbezogenen Betriebsanweisung spezifiziert werden.

3.6.2.2. Feststoffabfall

Abfall aus **Weiß-Glas, Braun-Glas, Styropor-Formteile und -Chips, Kartonagen und Papier** sind getrennt zu sammeln und der fachgerechten Entsorgung, bzw. dem Recycling zuzuführen. Restmüll (u.a. entleerte, verschlossene Caps, sowie Plastik-Pipettenspitzen) darf nur dann in den Hausmüll, falls eine Gefährdung des Putzpersonals und der Umwelt ausgeschlossen ist (siehe Anhang "Entsorgung von Feststoff-Abfall"). Mit Gefahrstoffen verschmutzter Abfall ist zu reinigen/zu inaktivieren oder als Gefahrstoff zu entsorgen. **Borosilikat-Glas** wird mit dem Restmüll entsorgt (auf keinen Fall zum Glas-Recycling!). **Teflonbeschichtete Objektträger** mit fixierten Proben dürfen NICHT in den Glasabfall: autoklavieren und mit Hausmüll entsorgen.

Spitzes und scharfkantiges Material (z.B. Injektionsnadeln) muss so gesammelt werden, dass eine Verletzung von Mitarbeitern ausgeschlossen ist. Hierfür sind festwandige und fest verschliessbare Kunststoffbehälter zu verwenden.

Getrennte Sammlung für:

- Papier (sauberes) — in die Papierkontainer in allen Räumen (Entsorgung durch die Reinigungsfirma)
- Kartonagen — Keller – Abfallraum (selbst entsorgen)
- Styropor (Formteile und Chips) — Keller – Abfallraum (selbst entsorgen)
- Druckerpatronen von Laserdruckern und Tintenstrahldruckern (sauber verpackt!): Keller – Abfallraum (selbst entsorgen)
- Entladungsröhren — Keller – Abfallraum (selbst entsorgen)
- Elektronik-Geräte — Keller – Abfallraum (selbst entsorgen)

Chemikalien

Flüssige Chemikalien-Abfälle sind getrennt in folgende Kategorien zu sammeln (Farbbändchen am Abfall-Kanister):

GELB

Lösemittelabfälle, halogenfrei
Aceton, Acetonitril, Formaldehyd, Formamid, Ethanol, Hexan, Pentan, Methanol, Propanol, Essigsäure, Propionsäure, mit Zusätzen von Halogenen (Chlorid, Bromid, Iodid, Fluorid) bis max. 1%. pH-Wert bei wässrigen Lösungen zwischen 4 und 13.

TRANS-PARENT

Lösemittelabfälle, halogenhaltig
Chloroform, Methylenchlorid, Tetrachlorkohlenstoff, etc., auch als Mischung mit halogenfreien Lösemitteln, pH-Wert bei wässrigen Lösungen zwischen 4 und 13.

ROT

Saure Salzlösungen
Anorganische Säuren wie Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, und anorganische Salzlösungen im sauren pH-Bereich mit geringen Anteilen halogenfreier oder -haltiger Lösungsmittel.
Achtung: keine hochkonzentrierten Säuren (diese sind zu alkalisieren und dann in den blauen Kanister zu füllen)

BLAU

Basische Salzlösungen
Laugen wie Kalilauge, Natronlauge, Lithiumhydroxid-lösungen, Ammoniak (<10%), sowie Salzlösungen im alkalischen pH-Bereich mit geringen Anteilen halogenfreier oder -haltiger Lösemittel.

Mischungen aus organischen Lösemitteln mit anorganischen Stoffen (z.B. Säuren) in die gelben bzw. transparenten Kanister. Kanister nicht zu voll machen (obere Bauchbinde).

Art der Hauptkomponenten und Verursacher des Abfalls sind aufzuzeichnen. Volle Laborabfallgefäße (nur die vorgeschriebenen 5L-Kanister!) sind ordnungsgemäß unter Einhaltung der Sicherheitsvorschriften (Schutzbrille, Schutzkleidung, ausreichende Lüftung etc., evtl. Transportbehälter und -wagen) in den Lösungsmittelraum zu transportieren. Eine Liste mit den 2 Hauptkomponenten jedes Flüssigabfallkanisters muss dem Gefahrgutbeauftragten übergeben werden. Alle Kanister sind nummeriert und registriert.

Für Quecksilber-,, Silber- (Entwickler und kolloidales), Jod- (Lugol!), Pikrinsäure- (BOUIN'sche Lösung) und Brom-haltige (z.B. *Ethidiumbromid*) Lösungen sind gesondert gekennzeichnete Chemikalienbehälter zu verwenden (siehe auch Anhang XIII)!

Folgende Stoffe dürfen nicht in die Sammelbehälter:
Chromschwefelsäure, Perchlorsäurelösungen, PCB- oder dioxinhaltige Stoffe (für derartige Abfälle müssen wir besondere Behälter anfordern), natürlich auch keine radioaktiven oder explosiven Stoffe oder infektiöses Material. Speziell gekennzeichnete Kanister verwenden und mit den Sicherheitsbeauftragten absprechen.

Feststoffchemikalienabfall wird nur in der **Originalverpackung** zur Entsorgung angenommen. Dem Gefahrgutbeauftragten muss eine Liste mit der Bezeichnung der Chemikalien und der Originalverpackungs-Größe (in g) – nicht aktueller Inhalt - übergeben werden.

Anmerkung: über den Laborausguss ist fast nichts zu entsorgen !!

Ausnahme: ungiftige, verdünnte, neutrale Pufferlösungen
Es gilt die Entwässerungssatzung der Gemeinde Feising.

Regeln für Gefahrstoff-Entsorgung / Flüssigabfälle:

Flüssigabfall wird nur in den bereitgestellten 5L-Kanistern entsorgt. Dabei sind folgende Regeln zu beachten:

- Erkundigen Sie sich bei jeder (!) Abfallart, in welchen Kanister Sie entsorgen können
- Gebinde nicht überfüllen – jeweiligen maximalen Füllstand beachten (ist auf dem Kanister angegeben – „Bauchbinde“)
- Eigenhändige Beschriftungen auf den Kanistern sind nicht zulässig! Bitte wenn nötig mit Tesafilm Zettel aufkleben, bzw. vorhandene Beschriftungen vollständig (!!) entfernen
- In den Kanistern dürfen sich keine pastösen oder feste Stoffe befinden! Keine Pipettenspitzen, Objektträger, Deckgläschen etc.!
- Abgelaufene Kanister können nicht entsorgt werden: bitte in neue Kanister umfüllen. Das Ablaufdatum ist 5 Kalenderjahre nach der Herstellungsprägung (einer TÜV-Uhr ähnlich an der Ausgussseite)
- Alle Kanister müssen mit den notwendigen Gefahrstoffaufkleber beklebt sein (liegen im Lösungsmittelkeller K03 bereit) – aber nicht über die Typ-Prägungen (Ausgussseite) kleben! Unbedingt einweisen lassen! Nur ordnungsgemäß gekennzeichnete Kanister dürfen im Keller abgestellt werden.
- Die Hauptkomponenten der Gefahrstoffe sind aufzuschreiben und dem Gefahrstoffbeaurftragten mitzuteilen (Mengenangaben sind nicht notwendig).

Beachte dazu Anhang XI.

3.7. Versorgung

Alle Bestellungen müssen mit dem Arbeitsgruppenleiter abgesprochen werden. Dies gilt insbesondere auch für Bakterienstämme und rekombinante DNA (Plasmide etc.).

3.8. Weitergabe von Bakterienstämmen und von DNA

Über jede **Bestellung oder Weitergabe** von gentechnisch verändertem Material (lebende Organismen oder DNA) kann nur der Laborleiter entscheiden. Gentechnisch veränderte Organismen dürfen ohne besondere Genehmigung durch das Bundesgesundheitsamt nicht versandt, an Dritte übergeben oder von Dritten bezogen werden. Dies gilt als In-verkehrbringen und unterliegt besonders strengen gesetzlichen Regelungen. Die (für uns zutreffenden) Ausnahmeregelungen für die Weitergabe zu wissenschaftlichen Zwecken in Länder mit ähnlich strengen Auflagen sind sehr eng gefasst. Sie sind unbedingt strikt einzuhalten. Die Entscheidung über die Weitergabe liegt beim Laborleiter.

3.9. Gerätebenutzung

Vor der erstmaligen Bedienung eines Gerätes (d.h. vor dem Einschalten!!!) gründlich durch einen Geräteverantworlichen einweisen lassen. Fehlbedienungen führen oft zu beträchtlichem materiellen Schäden, aber auch zu Gefahren für Leib und Leben! Für die meisten Geräte liegen Gebrauchsanweisungen und Sicherheitsinstruktionen bereit, letztere z.T. in dieser Betriebsanleitung.

Bitte denken Sie daran, dass Sie bei Schäden durch Fehlbedienung finanziell und rechtlich zur Verantwortung gezogen werden können. Und denken Sie an Ihre eigenen Experimente: auch Sie wollen ein Gerät benutzen, das sauber ist und tadellos funktioniert.

Bei ungewöhnlichen Geräuschen, Gerüchen oder sonstigen Auffälligkeiten (z.B. Kontroll-Lampen) sind der jeweils zuständige Lehrstuhlangehörige, sowie andere das Gerät nutzende Mitarbeiter (siehe Zuständigkeitsliste) zu informieren.

3.9.1. Inkubationsschüttler und Bruträume:

Bei Zerbrechen eines Gefäßes oder bei Verschütten von Kulturflüssigkeit sind geeignete Reinigungs- und Desinfektions-Maßnahmen durchzuführen (siehe 4.1.). In den Geräten und Bruträumen ist auf strikte Sauberkeit zu achten!

3.9.2. Wasserbäder:

Auf ausreichenden Wasserstand ist zu achten. Besonders bei höheren Inkubationstemperaturen (>45°) Wasserstand regelmäßig, d.h. täglich kontrollieren (auch am Wochenende).

Wasserbäder sind abends grundsätzlich auszuschalten; bei Langzeitinkubationen (über Nacht) ist ein Zettel mit dem Namen des Benutzers am Gerät zu befestigen. Die Geräte sind regelmäßig zu reinigen und Dichtungen müssen auf ihre Funktionstüchtigkeit geprüft werden.

3.9.3. Tischzentrifugen:

Das Gerät niemals bei laufendem Rotor versuchen zu öffnen. Um Aerosolbildung zu vermeiden sind folgende Punkte zu beachten:

- Eppendorf-Reaktionsgefäße nicht zu voll machen;
- immer symmetrisch beladen;
- wo vorhanden, Gefäße und Rotoren immer mit Deckel zu benützen.
- nur für das Zentrifugieren geeignete Gefäße verwenden

3.9.4. Kühlzentrifugen (Sorvall etc.):

- Zentrifungen sind hochwertige und sehr teure Arbeitsgeräte, von denen auch ein große Gefahr ausgehen kann.
- Alle Zentrifugen dürfen nur von Personen benutzt werden, die gründlich in die Benutzung durch den Geräteverantworlichen eingewiesen sind. Machen Sie sich zusätzlich zu der mündlichen und praktischen Einführung auch über die Bedienungsanleitung mit dem Gerät vertraut. Lassen Sie sich bei den ersten selbständigen Läufen kontrollieren!
- Die befüllten Röhrchen sind gewissenhaft gegeneinander auszutarieren. Die Zentrifugengefäße werden grundsätzlich außerhalb der Zentrifuge (vor und nach dem Einsetzen!) in die Rotoren eingesetzt und entnommen.

- Auf keinen Fall darf vergessen werden, den Rotordeckel anzubringen und erst die äußere (Deckelbefestigung) und dann die innere Schraube (Rotorbefestigung an der Spindel) gut festzuziehen.
- Vergewissern Sie sich, dass der verwendete Rotor für diese Zentrifuge und die gefahrene Umdrehungszahl zugelassen ist.
- Der feste Sitz des Rotors ist vor dem Start durch leichtes Anheben sicher zu überprüfen!
- Nach dem Lauf sind alle Röhrchen und Adaptoren aus dem Rotor zu nehmen.
- Die Bohrungen der Rotoren sind vor und besonders nach jedem Lauf zu kontrollieren. Etwaige Flüssigkeiten oder gar Sedimente sind aus den Bohrungen vorsichtig zu entfernen, gefolgt von einer gründlichen Reinigung und Desinfizierung des Rotors.
- Der Rotorraum ist ebenfalls auf ausgetretene Flüssigkeiten zu kontrollieren und gegebenenfalls zu reinigen und zu desinfizieren. Bei Austritt von biologischen Arbeitsstoffe der Risikogruppe 2 ist unverzüglich ein Verantwortlicher zu rufen, der weitere Sicherungsmaßnahmen ergreift.
- Für biologische Arbeitsstoffe der Risikogruppe 2 (L2 und S2) sind ausschließlich Rotoren und Zentrrifugationsgefäße mit biologischem Containment zu verwenden.
- Bei ungewöhnlichen Geräuschen, Gerüchen oder Erschütterungen ist die Zentrifuge sofort auszuschalten. Der zuständige Betreuer ist sofort zu informieren.
- Jeder Lauf ist in die aufliegenden Betriebshefte einzutragen.

3.9.5. Tiefkühlschränke (-70°) und Tiefkühltruhen (-80°, -50°):

- Nur verwenden, wenn wirklich unbedingt notwendig (z.B. für Langzeitlagerung empfindlicher Proben), nicht für Ethanolfällungen etc.;
- Nur **beschriftete** Proben (Name, Datum, Inhalt) in beschrifteten Behältern gehören in die Tiefkühlung.
- Biologische Arbeitsstoffe der Risikogruppe 2 dürfen nur in den entsprechend gekennzeichneten Kühlgeräten gelagert werden (im L2-Labor oder im Kühlkeller K05).
- Im Kühlkeller K05 ist der Aufenthalt für längerdauernde Arbeiten nicht gestattet.
- Bitte unbedingt Ordnung wahren.

3.9.6. UV-Licht:

UV-Transilluminator und UV-Lampen in den Werkbänken oder an Mikroskopen können Ihre Augen und Ihre Haut schädigen! Schutz durch

- kurze Expositionszeiten (auch im Interesse Ihrer Proben)
- möglichst großen Abstand von der Lichtquelle
- Schutzeinrichtungen wie UV-Schutzbrille und/oder Schutzschild, lange Ärmel etc.

3.9.7. Glasgeräte:

- Vor jeder Benutzung auf Beschädigungen überprüfen; beschädigtes Glas aussortieren bzw. entsorgen.
- Bei Druck- und Vakuum-Experimenten nur dafür geeignete und vorgesehene Geräte verwenden (Saugflaschen, Exsiccatoren etc.); vor Gebrauch sorgfältig überprüfen.

- Anzucht von anaeroben Bakterien in geschlossenen Gefäßen: Flaschen nicht zu voll machen, regelmäßig entlüften; Kulturen über 250 ml nicht in dicht verschlossenen Flaschen; nur kunststoff-ummantelte Flaschen verwenden!

3.9.8. Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop, automatischer DNS-Sequenzierer, Epifluoreszenzmikroskope

Diese Großgeräte dürfen nur nach praktischer Einführung und ausdrücklicher Erlaubnis durch den Geräteverantwortlichen benützt werden. Teilweise Anleitung im Anhang. Genauere Anweisungen in den Gerätehandbüchern und an Aushängen vor Ort.
Der Mikroskopraum ist sauber zu halten. In diesem Raum dürfen Proben nur im separat gekennzeichneten Bereich zur Mikroskopie vorbereitet, bzw. gelagert werden. Die anderen Plätze sind ausschließlich zum Zwecke schriftlicher Aufzeichnungen vorgesehen. Der letzte der den Raum verlässt, vergewissert sich zuvor ob alle Geräte ausgeschaltet sind, und sperrt sodann den Raum ab. Siehe auch Anhang XII.

3.9.9. Reinstwasser-Anlage MilliQ

Nur nach Einweisung benutzen. Austauschen der Patronen nur durch gesondert Eingewiesene. Den Wasseranschluß wegen der Circulation auch über Nacht nicht zuschließen! Leitfähigkeit und TOC-Wert-Anzeige überprüfen. Das Gerät über das Wochenende auf "standby"-Betrieb schalten.

3.10. Verlassen des Labors

Wer als Letzte(r) das Labor verlässt, kontrolliert gewissenhaft **Gashaupthähne**, Wasserhähne und Elektrogeräte (Wasserbäder!). Alle Fenster und Türen sind zu überprüfen und gegebenenfalls zu schließen.

Das Labor muss auch bei vorübergehendem Verlassen sicher verschlossen werden, so dass kein Unbefugter Zutritt erlangen kann.

3.11. Reinigung

1) Jede Person, die in den Labors Experimente durchführt, ist für die Reinigung und Sterilisation benutzter Geräte, Gefäße und Arbeitsplätze selbst verantwortlich.
2) Verschmutzungen mit gefährlichem oder infektiösem Material müssen in jedem Fall durch den Verursacher sofort beseitigt werden. Sonst besteht Gefahr der Selbstgefährdung und der Gefährdung anderer!
3) Besteht ein Reinigungsdienst, so sind alle zu reinigenden Materialien, Geräte etc. durch den Benutzer so vorzubereiten, dass für die reinigende Person jegliche Gefährdung ausgeschlossen ist: gründliche Dekontamination (biologisch, physikalisch oder chemisch) und Vorreinigung.
4) Der Laborreinigungsautomat darf nur nach Einweisung benutzt werden. Die ordnungsgemäße Beendigung des Waschvorgangs ist vor dem Ausräumen zu überprüfen, insbesondere die Destwasser- und die Entsalzer-Kontrolleuchte.

Waschen in der Waschmaschine ersetzt die vorhergehende Grobreinigung und vor allem auch die Desinfektion nicht!

3.12. Haftung bei grobfahrlässiger Beschädigung von Geräten

Bei grobfahrlässiger Beschädigung haftet der Verursacher. Der Abschluss einer **Laborhaftpflichtversicherung** ist damit für alle am Institut Tätigen (außer den fest Angestellten), insbesondere auch für HiWis, Großpraktikanten, Diplomanden und Gäste, erforderlich.

3.13. Arbeitszeiten

Die geltenden Arbeitszeiten sind **Montag bis Freitag von 7:00 bis 19:00 Uhr**. **Außerhalb der geltenden Arbeitszeiten sind mit besonderer Unfallgefahr verbundene Arbeiten nicht zulässig.** Außerhalb der geltenden Arbeitszeiten ist eine Eintragung in eine Laborliste mit Angabe des ***Namens, Datum, Beginn und Ende der Anwesenheit und Unterschrift*** vorzunehmen. Insbesondere gilt auch das Schreiben des Kanzler der TU München von 16.08.1993 und die entspr. Dienstanweisung.

4. Stör- und Notfälle

In **jedem** Stör- oder Notfall sind der zuständige Laborleiter und die Sicherheitsbeauftragten unverzüglich zu benachrichtigen.

4.1. Austreten biologischen Materials mit Gefährdungspotential

Verschüttetes Material (Mikroorganismen, kontaminierte Medien etc.) muss sofort mit Desinfektionsmitteln (siehe Hygieneplan) inaktiviert und mit Papiertüchern aufgewischt werden. Diese müssen danach durch Autoklavieren sterilisiert werden.

Beim Austritt größerer Mengen, bei humanpathogenem Material auch bei kleineren Mengen, ist der Gefahrenbereich zu räumen, großräumig abzusperren und der Laborleiter oder BBS zu verständigen. Dieser ordnet geeignete Reinigungs-Maßnahmen zur Desinfektion an, die nur von besonders eingewiesenen Personen ausgeführt werden dürfen. Bis zur Freigabe des betroffenen Bereichs durch den zuständigen Projektleiter oder BBS ist das Betreten durch Unbefugte verboten.

4.2. Hautkontakt mit biologischem Material mit Gefährdungspotential

Hautkontakt mit biologischem Material mit Gefährdungspotential ist unbedingt zu vermeiden. Tritt trotz aller Sicherheits-Maßnahmen Hautkontakt ein, sind die entsprechenden Hautstellen und auch evtl. kontaminierte Kleidungsteile sorgfältig mit geeigneten Desinfektionsmitteln zu desinfizieren (siehe Hygieneplan). Kontaminierte Kleidung (auch Unterwäsche) ist **sofort** zu wechseln.

4.3. Verletzung, Unfall

- Bei allen Hilfeleistungen zuerst auf die eigene Sicherheit achten.
- So schnell wie möglich einen Notruf tätigen.
- In akuten Fällen **sofort** den Notarzt verständigen: **Tel. 9622**
- Soweit möglich, sind Wunden im Rahmen der Erstversorgung zu reinigen, zu desinfizieren (Merfen etc.) und abzudecken. Alle Verletzungen sind **sofort** dem Sicherheitsbeauftragten, dem Laborleiter **und** dem betriebsärztlichen Dienst oder Durchgangsarzt zu melden. (Siehe "Notrufe")

4.3.1. Liste der Ersthelfer:

	Name	Telefon
Ersthelfer:	**Dr. W. Schwarz**	**-5445**
	C. Schneider	**-5461**
	M. Pillhofer	**-5456**

Weitere Ersthelfer werden immer gesucht. Bitte bei Dr. Schwarz melden.

4.3.2. Ordnungsgemäßer Notruf !!

1. in jedem Fall Laborleiter verständigen.
2. bei allen Arbeitsunfällen einen berufsgenossenschaftlich zuständigen Durchgangsarzt verständigen, wie z.B.:
   - Prof. Holzmüller, Krankenhaus Freising Tel. 0-244202
   - Dr. Gohritz, Fabrikstr. 8, Freising, Tel. 0-12088
   - Dr. Pötsch & Dr. Lengl, Gute Änger 15, Freising, Tel. 0-82900
   - Betriebsärztl. Dienst, Tel. 3908 (zentrales Praktikumsgebäude)
3. Arzt und Rettungspersonal sind über die Möglichkeit einer Infektion mit biologischem Material mit Gefährdungspotential zu unterrichten. Angaben über die Art der Bakterien mit Gefährdungspotential oder verwendeten Chemikalien sollen den Mitarbeitern bekannt sein und den Ersthelfern/ärzten etc. bekannt gegeben werden.

Die Telefonnummern der nächstliegenden Krankenhäuser und Ärzte, sowie des ***Gift***notrufs hängen neben den Telefonen aus.

Notarzt:	**9622**	Rettungszentrale (auch von Hausapparat)
Krankenhaus Freising:	**9691**	Zentrale (auch von Hausapparat)
Ersthelfer:	**5461, 5445** (intern)	
Giftnotruf:	**0-089-19240**	
Rettungszentrale:	**0-19222**	

An die W-Fragen denken! (wer-wieviele-was-wo...)

4.3.4. Versicherungen:

Alle Studenten, Praktikanten, Diplomanden und Doktoranden müssen **krankenversichert** sein. Alle Studenten, die im Labor arbeiten, müssen über die Fachschaft eine spezielle **Labor-Haftpflichtversicherung** abschließen, die

zusätzliche Risiken abdeckt. Bedenken Sie, dass der Lehrstuhl Sie für Schäden an Geräten etc. haftbar machen kann! (siehe Benutzervereinbarung)

Für alle Mitarbeiter, die Laborarbeiten durchführen, ist darüberhinaus eine private Unfallversicherung dringend angeraten: Die staatliche Unfallversicherung (LUK) zahlt nur für sehr begrenzte Risiken.

4.4. Brand

Feuerwehr-Notruf ist **112** (bzw. **9112** außerhalb der Dienstzeit), auch von Hausapparaten.

Die gültigen Notpläne sind zu befolgen. Sofortmaßnahmen ergreifen:

- Personen retten

- gefährdete Personen warnen (andere Räume auf diesem Flur etc.)

- Feuer melden: -> Feuermelder -> Feuerwehr

Die nächsten **Feuermelder** befinden sich in der Eingangshalle und im Durchgang zum Nebengebäude.

- Alle Brandabschnittstüren (Gangtüren) und Labortüren schließen!
- Der Feuerwehr den Weg weisen (oder eine Person damit beauftragen).
- In allen gefährdeten Räumen evtl. vorhandene Personen warnen.
- Die Sicherheitsbeauftragten und den Laborleiter sofort benachrichtigen.
- Zum **Sammelplatz** gehen. Der Sammelplatz befindet sich im Hof vor dem Haupteingang (siehe aushängenden Plan).

Ein Plan mit den Fluchtwegen und Feuermeldern hängt in den Labors aus.

Bitte machen Sie sich mit der Umgebung Ihres Arbeitsplatzes vertraut: Notdusche, Augendusche, Gas-Notaus, Elektro-Notaus, Telefon und Notrufnummernliste, Fluchtweg, Feuerlöscher (inkl. Handhabung), Brandschutzdecke, Sandlöscher etc..

Anhang 1
Hygieneplan

I.1. Allgemeines

Im Labor muss Schutzkleidung getragen werden, insbesondere langärmlige Laborkittel mit verdeckter Knopfleiste. Lose lange Haare sind nach hinten zu binden. Bei einer möglichen Gefährdung sind auch Ringe, Armbanduhren und sonstiger Schmuck abzulegen. Die Schutzkleidung muss bei Verlassen des Labors, nach Beendigung der Arbeit und bei Kontamination oder Verunreinigung ausgezogen werden. Im Laborbereich getragene Schutzkleidung muss getrennt von der Straßenkleidung aufbewahrt werden.

Hautkontakt mit biologischen Arbeitsstoffen ist grundsätzlich zu vermeiden (Schutzhandschuhe, Schutzbrille etc.).

I.2. Desinfektion

Nach Beendigung eines Arbeitsganges der Risikogruppe 2 und vor Verlassen des Labors müssen die Hände desinfiziert, gewaschen und nachgefettet werden (in dieser Reihenfolge). Dosierspender stehen an den Handwaschbecken bereit. Abtrocknen nur mit Einmalhandtüchern.

Kontaminierte Arbeitsflächen, Geräte oder Haut werden mit Ethanol (3 ml, 80 %, 30 sec), n-Propanol (3 ml, 60 %, 30 sec) oder einem konfektionierten Desinfektionsmittel desinfiziert, soweit nicht Abflammen, Ausglühen oder Autoklavieren möglich ist. Dosierspender für Desinfektionsmittel stehen im Labor bereit.

Besondere Desinfektions-Maßnahmen müssen ergriffen werden, wenn mit humanpathogenen Bakterien (Risikogruppe 2) gearbeitet wird - nach Absprache mit Laborleiter.

Bei Freiwerden von biologischen Arbeitsstoffen (Kontamination von Labor, Geräten oder Beschäftigten) ist unverzüglich der kontaminierte Bereich großräumig abzusperren und ein Verantwortlicher zu verständigen (Laborleiter, BBS), der besondere Maßnahmen ergreift.

I.3. Sterilisation

1) Glas- und Metallwaren werden bei 180 °C (Kerntemperatur!) mind. 3 Std. sterilisiert.

2) Medien und Lösungen können im großen oder kleinen Dampfautoklaven bei 1 bar Überdruck für 20 min sterilisiert werden, soweit sie diese Behandlung vertragen. Die ordnungsgemäße Beendigung des Sterilisiervorgangs beim Autoklavieren ist jedes Mal zu überprüfen.

3) Inaktivierung kontaminierten Materials: siehe Anhang III.

4) Empfindliche Lösungen und Medien können in sterilisierten, sporendichten 0.2 µm Sterilfiltern filtriert werden.

I.4. Überprüfung der Autoklaven

Alle Autoklaven müssen halbjährlich durch den Laborleiter oder seine(n) Beauftragte(n) überprüft werden. Diese Überprüfung ist zu protokollieren. Die Überprüfung wird mit Sterikon-Bioindikator von Merck durchgeführt (Art. Nr. 10284), der auf einer Inaktivierung von *Bacillus stearothermophilus* Sporen beruht, die erst nach 14 bis 15 min bei nicht weniger als 121 °C (1 bar) vollständig inaktiviert werden. Der Bioindikator ist im Kühlschrank aufzubewahren. Er ist dort bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Der Nachweis der Inaktivierung erfolgt durch Bebrüten (Ausbleiben des Farbumschlags eines pH-Indikators).

Vorgehensweise:

Eine Ampulle wird zusammen mit Autoklaviergut (am besten zwischen oder in dem Gut) mit dem üblichen Autoklavierprogramm (Zeit, Druck o. Temperatur) autoklaviert. Bei den neuen Autoklaven ist hierzu das Programm 2 (Inaktivierung) zu wählen. Anschließend wird die geschlossene Ampulle bei 60 °C für 48 Std. bebrütet. Nach 24 Std. kontrollieren. Der Autoklav arbeitet nicht richtig, wenn der Ampulleninhalt nach dem Bebrüten nicht mehr violett und klar, sondern gelb und trüb ist (Wachstum von Zellen und Zuckervergärung).

Das Ergebnis wird protokolliert. Das Protokoll ist von einem Berechtigten (BBS, Projekt- oder Laborleiter) zu unterschreiben, abzuheften und aufzubewahren.

Anhang II

Arbeiten in der Sicherheitswerkbank Klasse 2 (LamFlow)

Bei Arbeiten mit Gefährdungspotential der Stufe 2, bei denen sich Aerosolbildung nicht vermeiden lässt, muss in einer Sicherheitswerkbank der Klasse 2 (mit Hochleistungs-Schwebstoffilter) gearbeitet werden. Dies gilt für Überimpfen, Umfüllen von Kulturen, Suspendieren etc.. Diese Werkbänke stellen den Personen- und Produktschutz sicher.

Folgende Punkte sind beim Arbeiten mit der Sicherheitswerkbank zu beachten:

- das Gerät ca. 30 min vor der Benützung einschalten und einlaufen lassen
- alle Geräte, die in die Sicherheitswerkbank gebracht werden, vorher mit Alkohol gründlich reinigen
- Luftschlitze in der Arbeitsfläche nicht verdecken (Ärmel etc.!) - vorhandene Armstützen benutzen
- möglichst wenig Gegenstände in den laminaren Luftstrom bringen und starke Bewegungen vermeiden (Turbulenzen)
- Arbeiten mit Bunsenbrenner möglichst vermeiden (touch-o-mat-System, kleine Flamme). Keine Zündflammen!
- Beschädigung der HOSCH-Filter (oben) vermeiden - Flamme, Pipette !
- die Werkbank nach der Arbeit säubern, mit Desinfektionsmittel (alkoholisches: z.B. 70 % Isopropanol) auswischen und UV-Licht einschalten, soweit vorhanden
- nach der Desinfektion auf keinen Fall sofort wieder einschalten oder gar Gasflamme entzünden !! (Alkoholdampf) Offen stehen und Ausdampfen lassen.
- Prüfungs- und Servicedaten beachten (die Adresse der Service-Firma ist aufgeklebt)
- Bei Verdacht auf Fehlfunktion den Beauftragten verständigen

Eine Anweisung für die Benutzung muss an jeder Werkbank hängen. Jeder Neuling muss vor der Erstbenutzung eingewiesen werden.

Anhang III

Autoklavieren von Medien und Entsorgung biologischen Materials

III.1. Allgemein Nährmedien für die Mikrobiologie sowie Arbeitslösungen (Puffer, Salzlösungen etc.) werden meist durch Autoklavieren sterilisiert. Weiterhin müssen Abfälle (flüssig und fest) und Abwässer von mikrobiologischen und genetischen Arbeiten der Sicherheitsstufen S1 und S2 inaktiviert werden. Autoklavieren ist hierfür die sicherste, umweltfreundlichste, kostengünstigste und auch am wenigsten arbeitsaufwendige Art der Entsorgung. Das zu autoklavierende Material wird 20 min bei 1.1 bar Überdruck auf 121°C erhitzt, die Inaktivierung von Abfall erfolgt bei 135 °C. Die Vorschriften der Druckbehälterverordnung sind zu beachten. Die halbjährliche Überprüfung der Funktionsfähigkeit der Autoklaven ist schriftlich festzuhalten. Verantwortlich für die Autoklaven sind Dr. W. Schwarz und Dr. L. Eberl.

Diese Anleitung bezieht sich auf die beiden großen Autoklaven (alte); für die kleinen Autoklaven liegt in der Schublade eine ausführliche und an der Wand über den Geräten eine Kurzanleitung bereit. Grundsätzlich gelten die nachfogenden Ausführungen auch für die neuen Autoklaven.

III.2. Beladen

- **Die Autoklaven dürfen nur unter Aufsicht von speziell eingewiesenen und von den Arbeitsgruppenleitern bevollmächtigten Personen beladen werden**.
- Das Autoklaviergut ist so zum Autoklavieren zu transportieren, dass Gefährdungen ausgeschlossen sind: z.B. biologische Abfälle der Sicherheitsstufe 2 in den dafür vorgesehenen gelben Deckelsäcken, die vorher durch Aufdrücken des Deckels fest verschlossen werden. Die verschlossenen Säcke werden aus dem roten Eimer in einen Gitterkorb **mit Bodenwanne** gestellt, auf dem Bio-Abfallwagen in den Autoklavenraum (012) transportiert und dort samt Gitterkorb in den Autoklaven gestellt.
- Die Inaktivierung kontaminierten L2/S2-Materials erfolgt bei 135 °C nur in den **neuen** H&P Stand-Autoklaven **mit** Abluftfiltration.
- Flüssiges Autoklaviergut ist in hitzestabilen, bruchsicheren und ausreichend großen Gefäßen unterzubringen. Wegen ihrer Robustheit und Unempfindlichkeit auch gegenüber steilen Temperaturgradienten ist Erlenmeyerkolben aus Spezialglas grundsätzlich der Vorzug zu geben gegenüber Gefäßen aus einfachem Pressglas.
- Bei Abfall in Plastikbeuteln nur autoklavierbare Spezialbeutel verwenden: die opaque-weissen oder die gelben Polypropylen-Beutel.
- **Immer** Autoklavierkörbe verwenden.
- Beim Einbringen vieler Gefäße darauf achten, dass die darunter liegenden Gefäße nicht zerdrückt werden - z. B. Weichwerden durch Hitzeeinwirkung beachten. Lieber zwei Autoklavierkörbe übereinander stellen.

- Flüssigkeiten in offenen und geschlossenen Gefäßen dürfen nur in Autoklaven mit temperaturabhängiger Deckelverriegelung sterilisiert.
- **Beim Autoklavieren von Flüssigkeitsmengen größer als 1 Liter immer den Meßfühler verwenden - darauf achten, dass der Fühler in dem Gefäß mit der größten Flüssigkeitsmenge steckt (ersatzweise in einem identischen Gefäß mit derselben Menge Wasser) – NIEMALS ein kleineres Gefäß verwenden: Gefahr von Siedeverzug! Bei noch größeren Flüssigkeitsmengen einen Zettel am Autoklaven anbringen, damit er erst nach vollständigem Abkühlen (möglichst unter 50 °C) geöffnet wird.**

III.3. Den Autoklaven in Gang setzen

- **Die Autoklaven dürfen nur von speziell eingewiesenen und von den Arbeitsgruppenleitern bevollmächtigten Personen in Gang gesetzt werden**.

III.4. Den Autoklaven öffnen (siehe auch Bedienungsanleitungen)

- **Die Autoklaven dürfen nur von speziell eingewiesenen und von den Arbeitsgruppenleitern bevollmächtigten Personen geöffnet werden**.
- Vor dem Öffnen davon überzeugen, dass der Autoklaviervorgang ordnungsgemäß beendet wurde: Alarmton ertönt, rote Kontrollampe leuchtet, Zeitanzeige auf Null, Temperatur noch über 100°C. Bei den neuen Autoklaven: Kontrollanzeige
- **Das Tragen einer Schutzbrille beim Öffnen der Autoklaven ist ein absolutes Muss!**
- Beim Entnehmen des Autoklaviergutes den Korb mit einem passenden Deckel versehen, dann vorsichtig herausnehmen und abkühlen lassen (besonders größere Flaschen stehen unter Druck! Siedeverzug!).

Glasgefäße mit zu entsorgendem Agar sind vor dem Erstarren zu entleeren (in einen Abfallsack). Die Gefäße sind durch ordnungsgemäße Vorreinigung für den Laborreinigungsautomaten vorzubereiten.

III.5. Reinigung

- Den Autoklaven regelmäßig reinigen: Wasser und evtl. Bodensatz absaugen, Innenwände abbürsten, Ringdichtung abwischen etc..

III.6. Zusätzlich beim Autoklavieren von Medien für die Anzucht von Anaerobiern zu beachten:

- Beim Autoklavieren von Flüssigkeiten in geschlossenen Gefäßen sollten die verwendeten Glasflaschen mit einem Splitterschutz beschichtet sein. Das gilt insbesondere für 1 l, 2 l und 5 l Flaschen. Flaschen größer als 5 l dürfen grundsätzlich nicht geschlossen autoklaviert werden.
- Am Autoklaven einen Zettel anbringen, damit er nicht vorzeitig oder ohne die Sicherheitsvorkehrungen geöffnet wird!

- Die Gefäße müssen sich grundsätzlich in einem seitlich und unten geschlossenen Behälter befinden, der vor der Entnahme aus dem Autoklaven **mit einem festen Deckel** abgedeckt werden muss (Spritzschutz).
- Der Deckel ist erst wieder abzunehmen, wenn der **Flascheninhalt** Zimmertemperatur erreicht hat.

Anhang IV
Reinigung von Plastikmaterial (z.B. Zentrifugenbechern)

IV.1. Materialien:

Polypropylen (PP) - opaque, weißlich
Polycarbonat (PC) - klar, gelblich
Polyvinylchlorid (PVC) - undurchsichtig, verschieden gefärbt
Polyethylen (PE) - durchscheinend
Polyallomer (PA) - durchscheinend

IV.2. Haltbarkeitstabelle:

	Tmax	Autokl	spröd?	acid	base	alcohol	CHCl3	phenol
PP	135	ja	0	++	++	++	--	--
PC	135	(ja)	-135	+	--	+	--	--
PVC	70	nein	-30	++	++	++	--	--
PE	80	nein	-100	++	++	++	--	--
PA	121	(ja)	-40	++	++	++	(+)	--

IV.3. Unsere wichtigsten Gefäße aus Plastikmaterialien:

Messzylinder (weißlich) - PP
Zentrif.röhrchen klein weißlich - PP
Zentrif.röhrchen klein gelblich - PC
Zentrif.röhrchen groß weißlich - PA
Zentrif.röhrchen groß gelblich - PC
Eppendorf-Caps - PP
Fotoschalen - PVC
Eppendorfständer grau - PVC

IV.4. Plastikmaterialien im Autoklaven:

Autoklavieren verringert generell die Lebensdauer aller Plastikgefäße, besonders von PC, das spröde wird (Sprünge). PE-Gefäße können nicht, PA-Zentrifugenbecher nur bedingt (d.h. kurz und ohne Verformungsdruck) autoklaviert werden. Während des Autoklavierens müssen

alle (Schraub-) Verschlüsse gelockert sein: am besten zusätzlich als Schutz gegen Festsaugen einen Papierstreifen einlegen oder Deckel vollständig abnehmen.

Vor dem Autoklavieren **immer** gut säubern.

IV.5. Säuberung von Plastikmaterialien:

Generell waschen mit milden Detergentien (Spülmittel) und weicher Bürste, mit destilliertem Wasser nachspülen und bei Raumtemperatur trocknen (Abtropfbrett). Niemals mit stark alkalischen Spülmitteln (Spülmaschine!!!), mit Scheuermitteln, harten Bürsten und Topfkratzern, oder mit organischen Lösungsmitteln reinigen.

Öle und Fette lassen sich durch kurzzeitige (!) Behandlung mit Aceton (nicht für PC und PVC) oder Ethanol abwaschen. **Sofort** mit H_2O nachwaschen.

IV.6. Dekontaminierung und Reinigung von Zentrifugenbechern

Jeder Benutzer ist für die Dekontaminierung und Reinigung selbst verantwortlich.

Grobe Rückstände (Bakteriensedimente) sind mit einem Spatel zu entfernen und zusammen mit den flüssigen Rückständen dem kontaminierten Abfall zuzuführen. Anschließend wird mit Bürste und Isopropanol oder anderen geeigneten Desinfektionsmitteln dekontaminiert und gründlich mit warmer Seifenlauge gereinigt.

Anhang V
Entsorgung von Ethidiumbromid-Abfällen

Zu 250 ml Ethidiumbromid-haltiger wässriger Lösung gibt man:

3.8 ml 50 % Hypophosphorige Säure (Aldrich 21,490-6)

0.78 g Natriumnitrit $NaNO_2$ (Aldrich 23,721-3)

Den pH kleiner als 3 kontrollieren.

Über Nacht bei RT stehen lassen, danach mit $NaHCO_3$ neutralisieren und als Flüssigabfall entsorgen.

Modifiziert nach: G. Lunn, E. Sansone, Anal.Biochem.162,453-458(1987)

Ethidiumbromid-haltiger **Feststoff** (Gele, kontaminierte Handschuhe, Wischtücher, Pipettenspitzen etc.) werden in den bereitstehenden, gekennzeichneten Extra-Eimern in festen Plastik säcken gesammelt und in die blauen 60L-Spannringtonnen entsorgt. Bitte überflüssiges Volumen vermeiden, die Plastiksäcken nicht zu voll machen und die Säcke fest in die Tonne pressen!

Anhang VI
Entsorgung von Feststoffen

Bitte die Mülltrennung in Weihenstephan strikt beachten:

kontaminierten Biomüll L1/S1	in den farblosen Polypropylenbeuteln (Emaille-Eimer) sammeln; vor der Entsorgung durch Autoklavieren inaktivieren
kontaminierten Biomüll L2/S2	in den gelben Polypropylen-Deckelbeuteln (rote Eimer) sammeln; vor der Entsorgung durch Autoklavieren inaktivieren
autoklavierten Müll	im Autoklavenraum sammeln und evtl. selbst in die Reststofftonnen bringen
Papier	nach Feinpapier und Kartonagen getrennt im Abfallraum (KG) deponieren (kein verschmutztes Papier!)
Styropor-Chips	Abfallraum (KG) - farbloser Sack (von Stärke-Chips trennen!)
Styropor-Formteile	Abfallraum (KG) - Gitter-Container
Glas	nach Weißglas und Braunglas Laborglas trennen und in das Abfallraum (KG) in die entsprechenden Tonnen bringen. Borsilikatglas mit dem Restmüll entsorgen
Restmüll	blaue/schwarze Säcke
Patronen von Laser-/Tintenstrahldruckern	sauber verpacken; Recycling durch TU – Sammelkarton im Abfallraum (KG)
Elektronikschrott	Sammelkarton im Abfallraum (KG)
Entladungs-Röhren (Hg)	Sammelkarton im Abfallraum (KG)
Metall und Schrott	auf den Betriebshof der Abteilung Betriebstechnik bringen; bei größerem Aufkommen Entsorgung organisieren
alles andere	nach Absprache mit Gefahrgutbeauftragtem

Für toxischen Chemikalien-Abfall siehe gesonderten Anhang.

Nur die blauen/schwarzen Restmüll-Säcke aus den Labors und Büros, sowie der Papiermüll aus den Büros werden durch die Reinigungskräfte mitgenommen. Der gesamte sonstige Müll muss selbst in den Abfallraum gebracht werden!

Farblose und blaue Müllsäcke liegen im Abfallraum bereit, Polypropylensäcke zum Autoklavieren im Zentralbereich (EG).

Die Entsorgung aus dem Abfallraum (KG) erfolgt nach Bedarf (Anruf bei der Betriebstechnik); die Entsorgungsfirma kommt aber nur 14-tägig.

Anhang VII
Auszug aus der BioStoffV

§1 Diese Verordnung gilt für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen einschließlich Tätigkeiten in deren Gefahrenbereich. .. gilt nicht für Tätigkeiten, die dem Gentechnikrecht unterliegen, soweit dort gleichwertige oder strengere Regelungen bestehen.

§2 (1) Biologische Arbeitsstoffe sind Mikroorganismen, einschließlich gentechnisch veränderter Mikroorganismen ...., die beim Menschen Infektionen, sensibilisierende oder toxische Wirkungen hervorrufen können.

(2) Mikroorganismen sind alle zellulären oder nichtzellulären mikrobiologischen Einheiten, die zur Vermehrung oder Weitergabe von genetischem Material fähig sind.

(4) Tätigkeiten im Sinne dieser Verordnung sind das Herstellen und Verwenden von biologischen Arbeitsstoffen, insbesondere das Isolieren, Erzeugen und Vermehren, das Aufschließen, das Ge- und Verbrauchen, das Be- und Verarbeiten, Ab- und Umfüllen, Mischen und Abterennen sowie das innerbetriebliche Befördern, das Lagern einschließlich Aufbewahren, das Inaktivieren und das Entsorgen.

(5) Gezielte Tätigkeiten liegen vor, wenn

1. biologische Arbeitsstoffe mindestens der Spezies nach bekannt sind,

2. die Tätigkeiten auf einen oder mehrere biologische Arbeitsstoffe unmittelbar ausgerichtet sind und

3. die Exposition der Beschäftigten im Normalbetrieb hinreichend bekannt oder abschätzbar ist.

Nicht gezielte Tätigkeiten liegen vor, wenn mindestens eine der Voraussetzungen ... nicht gegeben ist.

§3 Biologische Arbeitsstoffe werden entsprechend dem von ihnen ausgehenden Infektionsrisiko in vier Risikogruppen eingeteilt:

1. Risikogruppe 1: Biologische Arbeitsstoffe, bei denen unwahrscheinlich ist, dass sie beim Menschen eine Krankheit verursachen.

2. Risikogruppe 2: Biologische Arbeitsstoffe, die eine Krankheit beim Menschen hervorrufen können und eine Gefahr für Beschäftigte darstellen können; eine Verbreitung des Stoffes in der Bevölkerun gist unwahrscheinlich; eine wirksame Vorbeugung oder Behandlung ist normalerweise möglich.

§4 (3) Kommt bei gezielten Tätigkeiten eine Einstufung in mehrere Risikogruppen in Betracht, so ist die Einstufung in die Risikogruppe mit dem höchsten Gefährdungspotential vorzunehmen.

§5 (1) Für die Gefährdungsbeurteilung hat der Arbeitgeber ausreichende Informationen zu beschaffen....

(2) (Es) ... ist die Zuordnung zu gezielten oder nicht gezielten Tätigkeiten vorzunehmen.

§6 (1) Der Arbeitgeber hat die Gefährdungsbeurteilung bei gezielten Tätigkeiten ... durchzuführen. In Gemischen von biologischen Arbeitsstoffen sind die einzelnen biologischen Arbeitsstoffe verschiedener Risikogruppen, ist für die Festlegung ... die Risikogruppe des biologischen Arbeitsstoffes mit dem höchsten Gefährdungsgrad maßgebend.

(2) Im Rahmen der Gefährdungsbeurteilung sind für alle gezielten Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen die in Betracht kommenden Schutz-Maßnahmen zu ermitteln. Es sind immer mindestens die allgemeinen Hygiene-Maßnahmen der Schutzstufe 1 festzulegen. Zusätzlich sind für biologische Arbeitsstoffe

1. der Risikogruppe 2 die Sicherheits-Maßnahmen der Schutzstufe ...

festzulegen.

§7 (1) Der Arbeitgeber hat die Gefährdungsbeurteilung bei nicht gezielten Tätigkeiten ... durchzuführen. Dabei ist zu prüfen, ob die nach §5 beschafften Informationen eine abschließende Gefährdungsbeurteilung und die Zuordnung der Tätigkeit zu einer Schutzstufe ... ermöglichen. Treten bei einer Tätigkeit mehrere biologische Arbeitsstoffe gleichzeitig auf, sind die einzelnen biologischen Arbeitsstoffe, soweit dies möglich ist, jeweils für sich zu bewerten.

(2) Kann die Tätigkeit einer Schutzstufe zugeordnet werden, sind .. für Tätigkeiten .. die in Betracht kommenden Schutz-Maßnahmen zu ermitteln und die erforderlichen Sicherheits-Maßnahmen ... so auszuwählen und festzulegen, dass die Gefährdung der Beschäftigten dadurch soweit wie möglich verringert wird. Mindestens sind die allgemeinen Hygiene-Maßnahmen der Schutzstufe 1 .. festzulegen.

(3) Kann die Tätigkeit einer Schutzstufe nicht zugeordnet werden, sind nach dem Stand der Technik Art, Ausmaß und Dauer der Exposition der Beschäftigten gegenüber biologischen Arbeitsstoffen zu ermitteln und die Gefährdung zu beurteilen. Die erforderlichen Schutz-Maßnahmen sind nach dem Stand der Technik festzulegen.

§8 Die Gefährdungsbeurteilung ist vor Aufnahme der Tätigkeiten durchzuführen und danach

1. bei Änderungen der Arbeitsbedingungen, die zu einer erhöhten Gefährdung der Beschäftigten führen können,

2. bei der Feststellung einer Kontamination des Arbeitsplatzes, ...

zu wiederholen, andernfalls spätestens nach Ablauf eines Jahres zu überprüfen. Der Betriebs- oder Personalrat, der Betriebsarzt oder der Arzt nach §15 Abs. 5 sowie die Fachkraft für Arbeitssicherheit sind bei der Gefährdungsbeurteilung zu beteiligen. ... (Es) müssen Unterlagen nach §6 Abs. 1 Satz 1 und 2 des Arbeitsscutzgesetzes vorliegen, wenn dort nicht ausschließlich gezielte Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen der Risikogruppe 1 ... oder hinsichtlich der Gefährdung vergleichbare nicht gezielte Tätigkeiten durchgeführt werden. Die Unterlagen müssen bei gezielten Tätigkeiten ein Verzeichnis der biologischen Arbeitsstoffe enthalten. Bei nicht gezielten Tätigkeiten ist dieses Verzeichnis zu führen, soweit die biologischen Arbeisstoffe für die Gefährdung nach §7 maßgeblich sind.

§10 (6) Das Arbeitsverfahren und die technischen Schutz-Maßnahmen sin d grundsätzlich so zu gestalten, dass biologische Arbeitsstoffe am Arbeitsplatz nicht grei werden. ...

(9) Ist die Sicherheitstechnik eines Arbeitsverfahrens fortentwickelt worden, hat sich diese bewährt und erhöht sich die Arbeitssicherheit hierdurch erheblich, ist das Arbeitsverfahren innerhalb eines angemessenen Frist dieser Fortentwicklung anzupassen.

(10) Biologische Arbeitsstoffe sind sicher zu lagern. Es sind nur solche Behälter zur Lagerung, zum Transport oder zur Beseitigung von biologischen Arbeitsstoffen zu verwenden, die hinsichtlich ihrer Beschaffenheit geeignet sind, den Inhalt sicher zu umschließen. Die Behälter sind für die Beschäftigten im Hinblickk auf die davon ausgehenden Gefahren in geeigneter Weise deutlich erkennbar zu kennzeichnen.

§11 (2) Um die Kontamination des Arbeitsplatzes und die Exposition der Beschäftigten so gering wie möglich zu halten, sidn die Funktion und die Wirksamkeit von technischen Schutz-

Maßnahmen regelmäßig zu überprüfen. Kann das Freiwerden von biologischen Arbeitsstoffen nicht sicher verhütet werden, ist zu ermitteln, ob der Arbeitsplatz kontaminiert ist. Dabei ist die mikrobielle Belastung der Luft am Arbeitsplatz zu berücksichtigen.

§12 (1) (Es) ... ist vor Aufnahme der Tätigkeiten eine Arbeitsbereichs und stoffbezogene Betriebsanweisung zu erstellen.

(2) ... Die Unterweisung ist vor Aufnahme der Tätigkeiten mündlich und arbeitsplatzbezogen durchzuführen sowie ... zu wiederholen. ... festzuhalten und von Unterwiesenen durch Unterschrift zu bestätigen.

(3) Für Tätigkeiten, bei denen erfahrungsgemäß aufgrund erhöhter Unfallgefahr mit einem Infektionsrisiko oder, als Folge eines Unfalls, mit schweren Infektionen zu rechnen ist, müssen zusätzlich Arbeitsanweisungen zu r Vermeidung von Betriebsunfällen am Arbeitsplatz vorliegen. Dies filt auch für -... Instandhaltungs-, Reinigungs-, Änderungs- oder Abbrucharbeiten in oder an kontaminierten Anlagen, Geräten oder Einrichtungen.

(4) Die im Gefahrenbereich Beschäftigten und der Betriebs- oder Personalrat sind über Betriebsstörungen, die die Sicherheit oder Gesundheit der Beschäftigten gefährden können, und über Unfälle unverzüglich zu unterrichten.

§13 (Anzeige- und Aufzeichnungspflicht nur für Tätigkeiten der Risikogruppe 3 und 4; dies berührt nicht die Pflicht zur Dokumentation der Gefährdungsbeurteilung bei Risikogruppe 2)

§15 (1) (Arbeitsmedizinishce Vorsorge bei Arbeiten mit Erregern der Risikogruppe 4)

(2) Beschäftigte sin d bei sonstigen gezielten Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen der Risikogruppe 3 und sonstigen nichtgezielten Tätigkeiten mit vergleichbarer Gefährdung ... arbeitsmedizinishce Vorsorgeuntersuchungen anzubeiten. Satz 1 gilt entsprechend für die Risikogruppe 2, es sei denn, aufgrund der Gefährdungsbeurteilung und der getroffenen Schutz-Maßnahemn ist nicht mit einem Gesundheitsschaden zu rechnen.

(3) Beschäftigten, die sich eine Infektion oder eine Erkrankung zugezogen haben, die auf Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen zurückzuführen sein kann, sind unverzüglich arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen anzubieten.

§16 (1) ... ist die zuständige Behörde auf ihr Verlangen über

1. Das Ergebnis der Gefährdungsbeurteilung und die der Beurteilung zugrunde liegenen Informationen,

2. die Tätigkeiten, bei denen Beschäftigte tatsächlich oder möglicherweise gegenüber biologischen Arbeitsstoffen exponiert worden sind, und die Anzahl dieser Beschäftigten,

4. die getroffenen Schutz- und Vorsorge-Maßnahmen einschließlich der Betriebs- und Arbeitsanweisungen ...

zu unterrichten.

Anhang VIII
Arbeiten mit Stickstoff

Erstickungsgefahr bei Arbeiten mit Stickstoff:

Bei zu hohen Stickstoffkonzentrationen verliert man schlagartig - ohne jede Vorwarnung - das Bewusstsein, und der Tod kann bereits nach wenigen Atemzügen eintreten. Da Stickstoff farb- und geruchlos ist, kann er vom Menschen nicht wahrgenommen werden.

Stickstoff ist zu 78 % in unserer Atemluft enthalten und wird daher auch nicht als Gefahrstoff im Sinne des Chemikalienrechts eingestuft (ähnlich Wasser). Daran mag es liegen, dass den Gefährdungen durch Stickstoff, verglichen mit anderen stofflichen Gefahren, manchmal weniger Aufmerksamkeit geschenkt wird. Dies jedoch zu Unrecht, wie immer wieder vorkommende Unfälle zeigen.

Schutzmaßnahmen:

Gerade weil die Gefährdungen durch Stickstoff schwer erkennbar sind, müssen die erforderlichen Schutzmaßnahmen unbedingt beachtet werden (siehe auch Unfallverhütungsvorschrift "Gase"). Dies gilt bei uns besonders für das Hineinbeugen in enge Öffnungen und Behälter, zum Beispiel Wartungsarbeiten am "Stickstoffzelt" (Anaerobenkammer).

- Bei Arbeiten mit Stickstoff niemals alleine arbeiten.
- Immer auf gute Durchlüftung des Raumes achten (Lüftung einschalten).
- Geschlossene Ecken und Nischen oder gar Hohlräume meiden.
- Bei Unfällen mit Stickstoff (Ohnmacht etc.) **SOFORTIGE WIEDERBELEBUNG** einleiten! - nicht erst das Eintreffen des Ersthelfers, Sanitäters oder Arztes abwarten!

Anhang IX
Sicherheitsorientierung im Labor

Ein Plan mit den Fluchtwegen und Feuermeldern hängt in den Labors aus. Bitte machen Sie sich mit der Umgebung Ihres Arbeitsplatzes (aller Räume, in denen Sie tätig sind) vertraut und vergewissern Sie sich, dass Sie folgende Fragen beantworten können (bitte abhaken):

- ◊ Wo ist die Notdusche?
- ◊ Wo ist die Augendusche?
- ◊ Wo ist der Gas-Notaus-Schalter?
- ◊ Wo ist der Elektro-Notaus-Schalter?
- ◊ Von welchem Telefon aus kann ich die Notrufnummern antelefonieren? Wo ist die Notrufnummernliste?
- ◊ Wie kann ich die Arbeits-Kollegen im Notfall erreichen?
- ◊ Was sind die Fluchtwege? (auch z.B. durchs Fenster auf den Balkon)
- ◊ Wo ist der Sammelplatz?
- ◊ Wo ist der Feuerlöscher? Wie wird er benutzt (Handhabung)?
- ◊ Wo ist eine Brandschutzdecke?
- ◊ Wo ist ein Sandlöscher? (nur einzelne im Institut)
- ◊ Wo ist der nächste Verbandskasten?
- ◊ Wo ist der Sanitätsraum?
- ◊ Wie erreiche ich den Laborleiter in Notfällen (auch außerhalb der Dienstzeit)? Wen muß ich sonst anrufen, wenn etwas schiefgeht? (Ersthelfer, andere Laborleiter, BBS)
- ◊ Von welchen Chemikalien geht die Gefahr von Vergiftungen, Verätzungen, Explosion, Brand aus? Was muß ich im Notfall bei jeder einzelnen tun?
- ◊ Von welchen Bakterien geht Infektionsgefahr aus? Welche? Wo stehen sie?
- ◊ Wo ist die Betriebsanweisung mit allen Anlagen? Habe ich sie durchgelesen?

Anhang X
Digestorien (Abzüge)

Der Abzug ist eine der wichtigsten sicherheitstechnischen Einrichtungen im Labor. Arbeiten, bei denen **Gase, Dämpfe, Aerosole oder Schwebstoffe** in gefährlicher Konzentration oder Menge auftreten können, dürfen grundsätzlich nur in Abzügen durchgeführt werden. Der Frontschieber des Abzugs schützt darüber hinaus vor **Spritzern und Splittern**. Der Frontschieber ist grundsätzlich geschlossen zu halten und darf nur soweit geöffnet werden, wie unbedingt notwendig.

Das Digestorium ist kein Aufbewahrungsort für Lösungsmittel und Gefahrstoffe: werden diese Stoffe nicht gerade benutzt, müssen sie im Lösungsmittelschrank, Säure/Laugeschrank (beide unter den Digestorien), im Lösungsmittelkeller oder im verschlossenen Gefahrstoffschrank aufbewahrt werden!

Die Funktion des Abzugs wird jährlich durch technisches Personal überprüft. Trotzdem ist eine Überprüfung der Funktionsfähigkeit durch den Benutzer vor jedem Gebrauch notwendig: sehen Sie nach, ob der Schalter auf „I“ steht und ob das grüne Kontrolllicht aufleuchtet; fühlen Sie mit der Hand oder einem losen Papierstreifen, ob die Luft abzieht; schließen Sie den Frontschieber so weit als möglich – nur dann ist gewährleistet, dass aus dem Digestorium nichts austreten kann. Und: nur ein aufgeräumtes Digestorium ermöglicht sauberes Arbeiten!

Hinweis: die Lüftungsanlage in unserem Gebäude ist auf 80 % der Volllast ausgelegt; die Abluft durch die Abzüge muß durch Zuluft entsprechend kompensiert werden. Das wird durch „Volumenstromregler“ automatisch geregelt. Wenn **alle** Abzüge an einem Lüftungsstrang in Betrieb sind, kann nicht genügend Luft zu- und abgeführt werden; dies führt zu Unterfunktions-Störungsmeldungen (rotes Warnlicht am Abzug, sowie Alarmton, der nach einiger Zeit verstummt). Beenden Sie dann **sofort** alle Arbeiten mit Gefahrstoffen und schließen Sie den Frontschieber sofort vollständig. „Unterfunktion“ heißt aber nicht notwendigerweise, dass gar keine Luft abzieht: ein Grundstrom an Abluft zieht immer in den Abzug hinein. Dies verhindert bei geschlossenem Frontschieber ein Austreten von Gefahrstoffen.

Eine Bitte: Konzentrieren Sie Abfall-Behälter, die dauernd unter dem Abzug stehen müssen, auf einige wenige Digestorien und schalten Sie andere Digestorien ab, wenn sie nicht gebraucht werden; dann können alle Institutsangehörigen sicher arbeiten, wenn es nötig ist. Behälter mit Gefahrstoffen haben außerhalb der konkreten Arbeiten mit ihnen im Abzug nichts verloren!

Anhang XI

Checkliste: Verpackung gefährlicher Abfälle zur Entsorgung

1.	**Gefahrgut ist für den Transport zugelassen, d.h. es sind ausschließlich die gemäß der Behälterkennzeichnung zugelassenen Stoffe eingefüllt !**	**Ja** **Nein**
2.	**Die Verpackung (z.B. der Abfallbehälter) ist für den Gefahrguttransport zugelassen (d.h. es wurde der vom Referat 54 zur Verfügung gestellte Abfallbehälter verwendet) !** **z.B. UN 1H1 / Y 1.2/.../D/.../BAM.../ für die Kanister** **UN 3H2 / Y .../.../D/.../BAM... für die Betriebsmitteltonne** **Die Kunststoffbehälter dürfen nicht älter als 5 Jahre sein !** **Evtl. Herstelldatum Verschlussdeckel beachten (< 5 Jahre) !**	**Ja** **Nein**
3.	**Der Behälter ist unbeschädigt sowie ordnungsgemäß und dicht verschlossen !**	**Ja** **Nein**
4.	**Der Behälter ist äußerlich frei von gefährlichen Stoffanhaftungen !**	**Ja** **Nein**
5.	**Erhalt eines sonstigen Nachweis über den Verbleib des Gefahrgutes (unterschriebenes Formblatt „Behälteranforderung, Abfallabholung) !**	**Ja** **Nein**
6.	**Gefahrgutübernehmenden auf den Gefahrguttransport hingewiesen !**	**Ja** **Nein**
7.	**Die Verpackung (z.B. der Abfallbehälter) trägt die erforderliche Kennzeichnung (z.B. Gefahrzettel, UN-Nummer) !** **Die Aufkleber wurden nicht verändert und kleben dauerhaft auf dem Behälter !** **Lösemittel: Flamme und Totenkopf (Gefahrzettel 3 + 6.1)** **Säuren/Laugen: Ätzend und Totenkopf (Gefahrzettel 8 + 6.1)**	**Ja** **Nein**
8.	**Einhalten der maximalen Füllhöhe bei Abfallbehältern für flüssige Stoffe !** **Bei Kanistern nur bis zum oberen Rand der „Bauchbinde“ !**	**Ja** **Nein**
9.	**Die Abfallbegleitscheine sind ordnungsgemäß ausgefüllt (z.B. Eintragung der Gefahrgutklassifizierung und der Menge des Gefahrgutes, Eintragung des Absenders und des Empfängers, Unterschrift des Absenders (= beauftragte Person)) !**	**Ja** **Nein**

Der Versand des Gefahrgutes darf nur erfolgen, wenn alle Einzelpunkte mit ja beantwortet wurden oder die Punkte für den Einzelfall nicht zutreffen !
Bei Problemen oder Fragen:

Gefahrgutbeauftragter des Lehrstuhl MB: Dr. W. Schwarz Tel. 08161-71-5445

Formatted: Normal, Justified

Anhang XII
Mikroskope, Mikroskopie-Labor

Die Mikroskope dürfen nur nach vorhergegangener Anleitung durch entsprechend autorisiertes Personal benutzt werden. Alle Mikroskope dürfen nach der Arbeit nur gereinigt und korrekt eingestellt (geköhlert) verlassen werden. Änderungen der Grundeinstellungen und von Grundkonfigurationen an den Geräten (z.B. Austausch von Filtern, Objektiven, ...) sowie der Lampenwechsel dürfen nur von autorisiertem Personal vorgenommen werden. Bei Defekten ist das betreffende Gerät unter Angabe der Störung zu kennzeichnen und der zuständige Laborleiter über die Störung umgehend zu informieren.

Bei Nutzung des Konfokalen Laser Raster Mikroskops, sowie der Epifluoreszenzeinrichtungen der anderen Mikroskope sind die Nutzung in den bei den Gräten befindlichen Logbüchern stets und exakt zu dokumentieren.

Bei Nutzung der Epifluoreszenzeinheiten müssen zuvor die Lampenbrennzeiten geprüft werden. Ab 100 Stunden Betriebsdauer kann es zu einem Leistungsabfall der UV-Lampen kommen. Diese sind dann, bzw spätestens nach 200 Stunden Brenndauer von autorisiertem Personal zu erneuern. Bei Nicht-Nutzung der Lampen von mehr als 20 Minuten Dauer, müssen die Lampen aus Kostengründen abgeschaltet werden. UV-Lampen dürfen dann aber erst nach einer Abkühlphase von mindestens 30 Minuten wieder eingeschaltet werden (Vorsicht, Lampen-Implusionsgefahr!). Diesbezüglich sind vor Inbetriebnahme die Vorausgegangenen Logbucheintragungen zu kontrollieren. Nicht immer ist es notwendig, die Epifluoreszenzeinheit parallel zu den Lasereinheiten in Betrieb zu halten. Zellen können durchaus auch im kostengünstigen Durchlicht- oder Phasenkontrastverfahren gesucht und fokusiert werden. UV-Lampen sind sehr teuer, also helfen Sie bitte mit, Betriebskosten zu sparen.

Im Mikroskopraum ist ein Tisch gekennzeichnet, an dem die Probenvorbereitung und vorübergehende Aufbewahrung (nur für die Dauer der mikroskopischen Arbeiten), sofern nicht in einem anderen Labor machbar, durchgeführt werden kann (Einbettung der Präparate und Auflegen von Deckgläsern). Die Arbeitsflächen neben den Mikroskopen sind ausschließlich für Dokumentationszwecke zu nutzen. Mit mit gesundheitsschädlichen Stoffen versetzten Präparaten (z.B. mit DAPI) ist vorsichtig umzugehen um Kontaminationen zu vermeiden. Eine Lagerung von Proben im Mikroskopie-Labor über die Dauer eines Arbeitstages hinaus ist nur nach vorhergehender Absprache mit dem zuständigen Laborleiter gestattet. Die mehrtägige Lagerung lebender Proben ist aber in jedem Fall untersagt.

Die Lebend-Beobachtung von L2/S2-Organismen ist im Mikroskopie-Labor (Raumnr. 009) nicht gestattet!

Autorisiertes Personal für die Einweisung zum Mikroskopieren: (Dr. Johannes Fried, Dr. Natuschka Lee; Marko Pavlekovic)

Autorisiertes Personal zum Ändern der Grundeinstellungen der Mikroskope und zum Lampenwechsel: Dr. Johannes Fried, Marko Pavlekovic

Laborleiter des Mikroskopie-Labors: Dr. Johannes Fried (Haustelefon: -5446; privat: 0179 5980184)

Anhang XIII
Umgang mit Pikrinsäure- und Quecksilber-haltigen Chemikalien

Mit Pikrinsäure oder Quecksilber kontaminierte Verbrauchsmaterialien (Einwegflaschen, Pipettenspitzen, Reagenzgefäße, Kanülen, Papier, etc.) sind getrennt in gesondert gekennzeichneten Gefäßen zu sammeln und zu entsorgen! Dasselbe gilt für anfallende Flüssigabfälle. Mit Pikrinsäure kontaminierter Abfall muss stets mit einem Anteil von 30% (Masse) Wasser versetzt werden um einer Selbstentzündung vorzubeugen. Pikrinsäurehaltige Behälter sind daher in jedem Fall luftdicht verschlossen zu lagern!
Volle Abfallbehälter werden im Lösungsmittelraum gelagert und sind am Arbeitsplatz durch leere zu ersetzen, bzw die im Labor gebräuchlichen kleinen Abfallbehälter werden in die entsprechenden, aber größeren Tonnen (lagern im Lösungsmittelraum) im Abzug entleert. Die Behälter müssen vollständig und richtig gekennzeichnet sein (Pikrinsäure mit den GefahrenzeichenTotenkopf T und Explosiv; Quecksilber mit dem Zeichen Totenkopf T+). Sind nur mehr wenige leere Abfallbehälter vorrätig, müssen über den Laborleiter rechtzeitig neue angefordert werden.

Beim Umgang mit Pikrinsäure ist besondere Vorsicht geboten (explosiv im trockenen Zustand und bei Kontakt mit Metallen oder Metallsalzen). Die entsprechenden Behälter sind in Kunststoffwannen, getrennt von anderen Chemikalien, zu stellen (Lösungsmittelraum, Abzüge). Beim Arbeiten mit Pikrinsäure ist desweiteren darauf zu achten, dass keine Hilfsmittel bestehend aus Metall oder Metallsalzen zur Bearbeitung dieser Chemikalie verwendet werden, also auch keine Pipetten mit metallener Spitzenabwurfvorrichtung oder Metallkolben (im Pipettenschaft) verwenden! Zudem sind das Tragen von Nitrilhandschuhen (keine Latex-Handschuhe!), Labormantel und Schutzbrille Pflicht.

Mit Pikrinsäure oder Quecksilber versetztes Probenmaterial darf nur in geeigneten Gefäßen (chemikalienresistent, luft- und wasserdicht, für Pikrinsäure auch metallfrei) gelagert und transportiert werden. Sowohl mit Pikrinsäure als auch mit Quecksilber versetzte Chemikalien sind verschlossen aufzubewahren.
Im übrigen gelten die Verhaltensmaßregeln der entsprechenden Sicherheitsdatenblätter.
Die Beschaffung, sowie der Umgang und der Transport von Pikrinsäure und Quecksilber, bzw. von mit diesen Chemikalien versetzten Stoffen, sowie deren Weitergabe bedarf der vorausgehenden Genehmigung duch den Laborleiter.

Zum Transport der Chemikalien, bzw. der mit diesen Chemikalien versetzten Proben, gelten folgende Regeln:

- Zusammenladeverbot auf einer Ladefläche oder in einem Container
- Rauchverbot beim Be- und Entladen
- Verbot von Feuer oder offenem Licht beim Be- und Entladen
- Mitführen von tragbaren Beleuchtungsgeräten (Taschenlampen gemäß Rn. 10353; eine je Person)
- Bei Internationalem Transport: Mitführung des Beförderungspapieres, sowie einem 2-kg-Feuerlöscher

- Die Beförderungsmenge (Brutto-Gewicht) ist im Falle von mit Pikrinsäure versetztem Material auf maximal 20 kg, von mit Quecksilber versetztem Material auf maximal 300 kg beschränkt.
- Klare und deutlich lesbare Bezeichnung auf den Transportbehältern.
- Das Mitführen der Sicherheitsdatenblätter wird empfohlen
- Verbot des Transportes in Flugzeugen.